



Effet de la complexation sur les réactions d'oxydoréduction biologiques

Daniel R. Thevenot

► To cite this version:

Daniel R. Thevenot. Effet de la complexation sur les réactions d'oxydoréduction biologiques. Claude Gavach. LA BIOCONVERSION DE L'ÉNERGIE SOLAIRE: Bases biologiques, électrochimiques et photo chimiques: Synthèse collective des cours de l'École d'Été, Chap. 14, Masson, pp.154 - 162, 1981. hal-01179340

HAL Id: hal-01179340

<https://hal.science/hal-01179340>

Submitted on 22 Jul 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

LA BIOCONVERSION DE L'ÉNERGIE SOLAIRE

*Bases biologiques,
électrochimiques et photochimiques*

Synthèse collective des cours de l'École d'Été
du C.N.R.S. coordonnée par
Claude GAVACH

PRÉFACE DE M. RODOT

MASSON

Paris New York Barcelone Milan Mexico Rio de Janeiro

1981

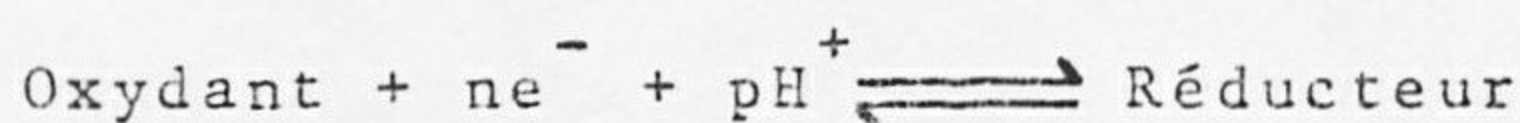
CHAPITRE 14

Effet de la complexation sur les réactions d'oxydo-réduction biologiques

D. THEVENOT

I - INTRODUCTION

Les réactions d'oxydo-réduction, encore appelées réactions rédox, sont caractérisées par le transfert d'électrons d'un donneur d'électrons (ou réducteur) sur un accepteur d'électrons (ou oxydant). Les oxydants et réducteurs fonctionnent donc comme des couples de conjugués rédox, ou couples rédox, selon :

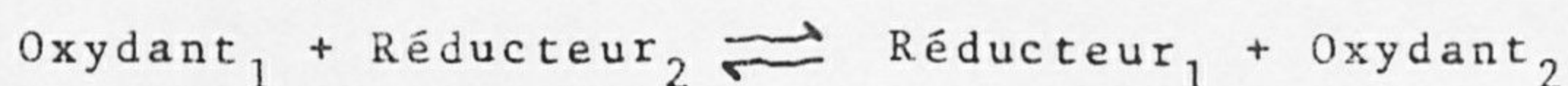


Le potentiel standard apparent E'^0 de chaque couple est le potentiel d'équilibre d'une solution de pH fixé à une valeur quelconque et contenant des concentrations molaires de l'oxydant et du réducteur du couple

$$E = E'^0 + \frac{RT}{nF} \text{Log} \frac{(\text{Oxydant})}{(\text{Réducteur})}$$

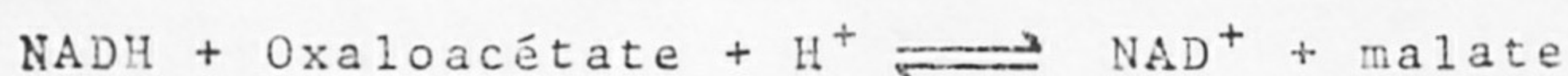
avec $E'^0 = E^0 - \frac{P}{n} pH$ et $2,30 \frac{RT}{F} = 59 \text{ mV à } 25^\circ\text{C.}$

Ces potentiels sont, par convention, rapportés au potentiel de l'électrode standard (ou normale) à hydrogène E.S.H. (ou E.N.H.) constituée en plongeant une électrode de platine platiné dans une solution de pH 0 et à 25°C en équilibre avec une pression d'hydrogène égale à 1 atm. Les potentiels standard apparent d'oxydo-réduction à pH 7 de divers couples d'intérêt biologique sont rassemblés dans le Tableau 1. Ces potentiels standard apparent permettent de déterminer les constantes apparentes d'équilibre, à ce même pH, d'une réaction rédox. Ainsi pour deux couples à n électrons



$$K_{app} = \frac{(\text{Réducteur}_1) (\text{Oxydant}_2)}{(\text{Oxydant}_1) (\text{Réducteur}_2)} = \exp \frac{nF}{RT} (E_1'^0 - E_2'^0)$$

La réaction entre l'oxydant du couple 1 et le réducteur du couple 2 sera donc d'autant plus quantitative, au pH considéré, que $E_1'^0$ sera supérieur à $E_2'^0$. Ainsi d'après les valeurs du Tableau 1, l'oxaloacétate oxyde NADH selon la réaction



qui doit se faire vers la droite. Cependant cette réaction, comme la plupart des réactions d'oxydo-réduction biologiques, ne peut avoir lieu à vitesse notable qu'en présence d'enzyme, ici la malicodéshydrogénase. SUND (2) a montré que les concentrations des coenzymes pyridiniques (NAD^+ , NADH , NADP^+ , NADPH) et celles des déshydrogénases sont du même ordre de grandeur dans une cellule vivante : les coenzymes sont par conséquent essentiellement présents sous forme d'association (ou complexe) avec les déshydrogénases.

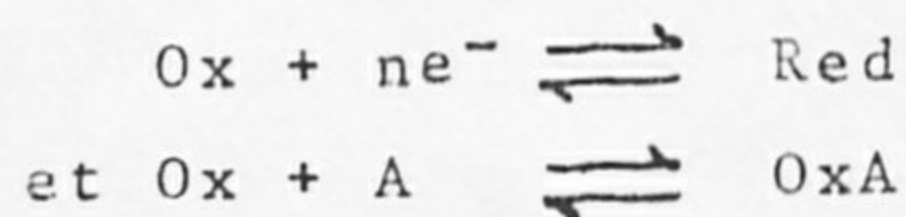
L'existence de telles associations enzyme-coenzyme ou enzyme-substrat montre que la compréhension des réactions d'oxydo-réduction biologiques passe par la connaissance de l'effet des complexations sur les réactions rédox.

II - VARIATION DES PROPRIETES REDOX PAR FORMATION DE COMPLEXE

Dans un couple oxydo-réducteur donné, nous considérerons successivement l'effet de la complexation de l'oxydant, du réducteur et des deux espèces.

2.1 - Complexation de l'oxydant

Supposons que l'on aie :



La constante de dissociation du complexe OxA s'écrit :

$$K_{D, \text{OxA}} = \frac{(\text{Ox}) (\text{A})}{(\text{OxA})}$$

TABEAU 1 - Potentiels standard apparent à pH 7 de divers couples oxydo-réducteurs biologiques (1, 3).

Couples oxydo-réducteurs	E'^0 (V/E.S.H.)
$H_2O_2 + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons 2H_2O$	+ 1,36
$O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightleftharpoons 2H_2O$	+ 0,816
$Cyt. f Fe^{3+} + e^- \rightleftharpoons Cyt. f Fe^{2+}$	+ 0,365
$Cyt. a Fe^{3+} + e^- \rightleftharpoons Cyt. a Fe^{2+}$	+ 0,29
$Cyt. c Fe^{3+} + e^- \rightleftharpoons Cyt. c Fe^{2+}$	+ 0,254
$hémoglobine Fe^{3+} + e^- \rightleftharpoons hémoglobine Fe^{2+}$	+ 0,144
$ubiquinone + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons ubihydroquinone$	+ 0,10
$acide déhydroascorbique + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons ac. ascorbique$	+ 0,058
$Cyt. b Fe^{3+} + e^- \rightleftharpoons Cyt. b Fe^{2+}$	+ 0,077 à + 0,02
$fumarate + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons succinate$	+ 0,031
$vitamine K_1 + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons dihydrovit K_1$	- 0,05
$glyoxylate + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons glycollate$	- 0,090
$oxaloacétate + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons malate$	- 0,166
$pyruvate + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons lactate$	- 0,185
$acétaldéhyde + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons éthanol$	- 0,197
$FMN + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons FMN H_2$	- 0,219
$FAD + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons FAD H_2$	- 0,219
$NAD^+ + 2e^- + H^+ \rightleftharpoons NAD H$	- 0,320
$NADP^+ + 2e^- + H^+ \rightleftharpoons NADP H$	- 0,320
$acétoacetate + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons \beta \text{ hydroxybutyrate}$	- 0,346
$cystéine + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons cystine$	- 0,340
$gluconolactone + 2e^- + 2H^+ \rightleftharpoons glucose$	- 0,364
$2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2$	- 0,421
$acétate + 2e^- + 3H^+ \rightleftharpoons acétaldéhyde$	- 0,58

A l'équilibre on a :

$$E = E_{Ox/Red}^0 + \frac{RT}{nF} \log \frac{(Ox)}{(Red)}$$

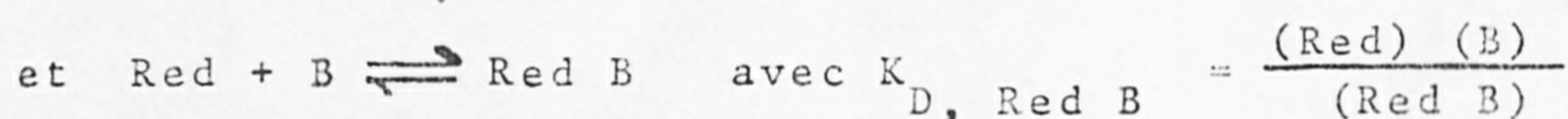
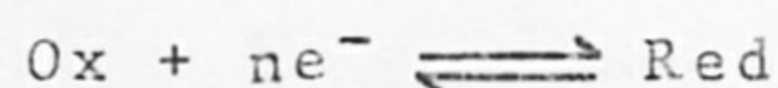
$$E = E_{Ox/Red}^0 + \frac{RT}{nF} \log \frac{K_D, OxA}{(A)} + \frac{RT}{nF} \log \frac{(OxA)}{(Red)}$$

$$\text{Donc } E_{OxA/Red}^0 = E_{Ox/Red}^0 + \frac{RT}{nF} \log \frac{K_D, OxA}{(A)} < E_{Ox/Red}^0$$

si $K_{D, OxA} \ll (A)$ c'est-à-dire si le complexe OxA est stable. En d'autres termes, complexer l'oxydant d'un couple redox revient à diminuer son pouvoir accepteur d'électrons.

2.2 - Complexation du réducteur

Supposons que l'on aie :



Donc :

$$E_{Ox/Red\ B}^0 = E_{Ox/Red}^0 + \frac{RT}{nF} \log \frac{(B)}{K_{D, Red\ B}} > E_{Ox/Red}^0$$

si $K_{D, Red\ B} \ll (B)$ c'est-à-dire si le complexe $Red\ B$ est stable. En d'autres termes, la complexation du réducteur entraîne la diminution de son pouvoir donneur d'électrons.

2.3 - Complexation de l'oxydant et du réducteur du même couple

Si OxA et $Red\ B$ peuvent tous deux exister, on a par analogie aux cas précédents :

$$E = E_{Ox/Red}^0 + \frac{RT}{nF} \log \frac{(B)}{(A)} \frac{K_{D, OxA}}{K_{D, Red\ B}} + \frac{RT}{nF} \log \frac{(OxA)}{(Red\ B)}$$

avec

$$E_{OxA/Red\ B}^0 = E_{Ox/Red}^0 + \frac{RT}{nF} \log \frac{(B)}{(A)} \frac{K_{D, OxA}}{K_{D, Red\ B}}$$

Dans le cas particulier où le complexant A peut également complexer le réducteur, c'est-à-dire si A est identique à B :

$$E_{OxA/Red\ A}^0 = E_{Ox/Red}^0 + \frac{RT}{nF} \log \frac{K_{D, OxA}}{K_{D, Red\ A}} < E_{Ox/Red}^0$$

si $K_{D, OxA} \ll K_{D, Red\ A}$ c'est-à-dire si le complexe OxA est plus stable que le complexe $Red\ A$.

Par exemple $E_{Fe(CN)_6^{3-}/Fe(CN)_6^{4-}} = +0,36 \text{ V/E.S.H.}$

est bien inférieur au potentiel normal du couple $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ ($E_{\text{Fe}^{4+}/\text{Fe}^{2+}} = + 0,77 \text{ V/ESH}$) car le complexe ferricyanure est plus stable que le complexe ferrocyanure. En effet

$$K_{\text{D}, \text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}} = 10^{-31} \quad \text{et} \quad K_{\text{D}, \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}} = 10^{-24}$$

III - APPLICATION AUX REACTIONS D'OXYDO-REDUCTION BIOLOGIQUES

Il est possible de distinguer cinq catégories d'enzymes qui interviennent dans la voie principale de transport d'électrons d'un substrat organique vers l'oxygène moléculaire ou bien dans les oxygénations directes :

- 1 - les déshydrogénases pyridiniques qui utilisent comme coenzyme NAD^+ ou NADP^+ ,
- 2 - les déshydrogénases flaviniques qui contiennent comme groupe prosthétique, soit FMN soit FAD,,
- 3 - les protéines fer-soufre
- 4 - les cytochromes qui contiennent un noyau porphyrine-fer
- 5 - les oxydases, de composition diverse mais qui contiennent souvent au moins une molécule de FAD comme groupe prosthétique.

Il apparaît clairement dans cette énumération que les quatre dernières catégories possèdent, dans leur état normal, au moins un groupe redox complexé par une structure protéique. Il est donc habituel de considérer dans ces cas les potentiels standard apparent des complexes contenant des flavines, des cytochromes ou des protéines fer-soufre (Tableau 2). La simple comparaison de ces potentiels permet d'apprécier la force respective des associations avec la forme oxydée et réduite du groupe redox : en effet le potentiel standard apparent est d'autant plus faible que la forme oxydée est complexée plus fortement que la forme réduite.

D'autre part, la première catégorie d'enzyme, les déshydrogénases pyridiniques, pose parfois quelques problèmes d'interprétation thermodynamique. C'est ainsi qu'in vivo NAD^+ oxyde quantitativement l'alcool en aldéhyde en présence d'alcool déshydrogénase. Or à pH 7 on a :

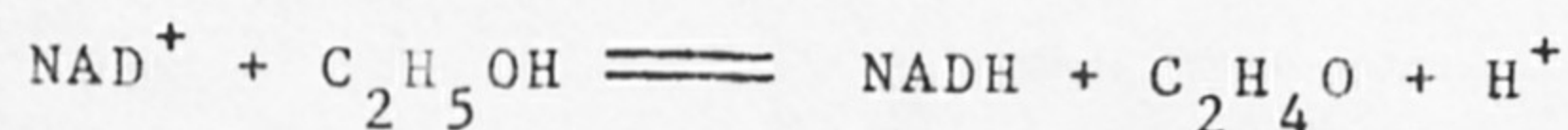
$$E'_{\text{NAD}^+/\text{NADH}} = - 0,32 \text{ V/E.S.H.}$$

	E'^0 (V/E.S.H.)
<u>1 - Flavines ou flavoprotéines</u>	
Riboflavine	- 0,208
Flavine mononucléotide (FMN)	- 0,219
Flavine adénine dinucléotide (FAD)	- 0,219
Dihydrolipoyl déshydrogénase	- 0,34
Xanthine oxydase	- 0,22
D-amino acide oxydase	- 0,11
NADH cytochrome réductase	0
Glucose déshydrogénase	+ 0,08
Décarboxylase	+ 0,19
Butyryl-CoA déshydrogénase	+ 0,187
<u>2 - Protéines fer-soufre</u>	
NADH déshydrogénase	- 0,30
Succinate déshydrogénase	0,00
Ferrédoxine	- 0,49
Adrénodoxine	- 0,27
Putidarédoxine	- 0,24
<u>3 - Fer et cytochromes</u>	
Fer ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$)	+ 0,77
Ferrocyanure/Ferricyanure	+ 0,36
Cytochrome a_3	+ 0,385
Cytochrome a	+ 0,210
Cytochrome c	+ 0,235
Cytochrome c_1	+ 0,225
Cytochrome b	+ 0,030

TABEAU 2 - Potentiels standard apparent à pH 7 des couples rédox libres ou complexés par des molécules biologiques (1, 3)

$$E_{\text{CH}_3\text{CH}_0/\text{CH}_3\text{CH}_2\text{ou}} = - 0,20 \text{ V/E.S.H.}$$

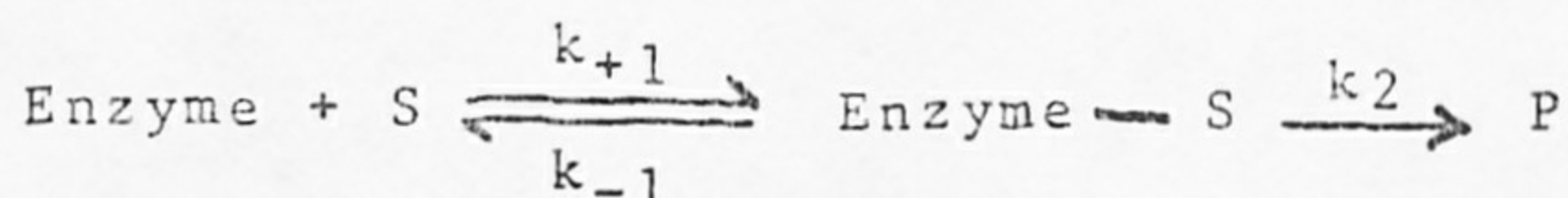
ce qui entraîne pour valeur de la constante apparente, à pH 7, de la constante de l'équilibre



$$K_{app} = 9,2 \cdot 10^{-5}$$

La réaction thermodynamiquement possible entre les espèces libres est donc la réaction inverse, c'est-à-dire l'oxydation du NADH par l'acétaldéhyde.

Il semble donc intéressant d'envisager, dans ce cas également, l'effet de la complexation de NAD^+ et NADH par l'enzyme. Faute de mesure directe des constantes de dissociation par équilibre de dialyse (4) ou de mesure indirecte en effectuant les rapports des cinétiques de dissociation et de formation de complexe (5, 6), il est possible d'estimer ces constantes de dissociation par les constantes de MICHAELIS de l'enzyme vis à vis de NAD^+ et NADH. En effet, la vitesse globale de la réaction enzymatique



peut être écrite sous la forme

$$v = - \frac{dS}{dt} = \frac{V}{1 + \frac{K_M}{S}} \text{ avec } K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_{+1}}$$

Comme fréquemment k_{-1} est prépondérant devant k_2 , on a

$$K_M \approx \frac{k_{-1}}{k_{+1}} = K_{D, \text{Enzyme} \text{---} S}$$

Dans le cas des déshydrogénases pyridiniques on a donc à pH 7 :

$$\begin{aligned} E'^0_{\text{Enz-NAD/Enz-NADH}} &= -0,32 + 0,03 \log \frac{K_{D, \text{Enz-NAD}}}{K_{D, \text{Enz-NADH}}} \\ &= -0,32 + 0,03 \log \frac{K_{M, NAD^+}}{K_{M, NADH}} \end{aligned}$$

Le tableau 3 exploite ainsi les données cinétiques sur diverses déshydrogénases pour comparer les potentiels standard apparent de NAD^+ et NADH complexés avec ceux des couples correspondant aux substrats oxydés et réduits. Il apparaît clairement dans cette comparaison, qu'à l'exception du système glucose/gluconolactone, le potentiel standard du couple Enzyme- NAD^+ /Enzyme-NADH est systématiquement 100 à 150 mV plus négatif que celui du substrat. Même avec un fort excès de NAD^+ par rapport à NADH l'oxydation de la forme réduite du substrat com-

TABEAU 3 - Estimation des potentiels standard apparent de NAD^+ et NADH complexés par des diverses déshydrogénases de diverses origines en utilisant les constantes de MICHAELIS de ces enzymes vis à vis de NAD^+ et NADH (7). Comparaison avec les potentiels standard apparent des substrats correspondants.

Substrat réduit/oxydé	K_M, NAD^+ (μM)	K_M, NADH (μM)	$E'^0_{\frac{\text{Enz-NAD}}{\text{Enz-NADH}}}$ (V/E.S.H.)	$E'^0_{\text{S/SH}_2}$ (V/E.S.H.)
alcool/ acétaldéhyde	17	27	- 0,33	- 0,20
	110	22	- 0,30	- 0,20
	74	11	- 0,295	- 0,20
malate/ oxaloacétate	540	25	- 0,28	- 0,17
	200	38	- 0,30	- 0,17
	140	27	- 0,30	- 0,17
glucose/ gluconolactone	15	80	- 0,34	- 0,36
glutamate/ oxaloacétate	20	30	- 0,325	- 0,14
	500	200	- 0,31	- 0,14
	47	26	- 0,31	- 0,14

me l'alcool ou le malate ne devrait pas pouvoir se réaliser. Si elle a bien lieu "in vivo" c'est que d'autres facteurs interviennent pour modifier les potentiels de l'un ou l'autre des couples. Citons par exemple l'effet d'une variation locale de pH ou d'une réaction consécutive qui consomme le substrat oxydé au fur et à mesure de sa formation. Dans le cycle de KREBS par exemple, le malate est oxydé par le NAD^+ en oxaloacétate qui lui-même, en présence d'acétyl-CoA, est transformé en citrate.

4 - CONCLUSION

L'existence de catalyseurs enzymatiques nécessaires à la réalisation d'un grand nombre de réactions rédox biologiques et la forte proportion de groupement rédox associés ou engagés dans des structures protéiques illustre l'importance des réactions de complexation dans les systèmes biologiques.

Ces complexes peuvent avoir des structures très diverses puisqu'ils peuvent être établis par formation de liaisons de faible énergie (liaisons hydrogène dans l'association NAD^+ -lactate déshydrogénase) ou de forte énergie telles que les liaisons covalentes (fixation du FAD par un résidu histidyl de la succinate déshydrogénase) ou les liaisons par transfert de charge. Les complexes formés peuvent être soit en solution, soit fixés sur des structures membranaires. Dans tous les cas, la compréhension des réactions d'oxydo-réduction impliquant ces formes complexées nécessite une bonne connaissance soit des constantes d'affinité ou de dissociation dans les conditions réelles de fonctionnement de la réaction, soit des potentiels standard apparent des formes complexées. Il reste encore beaucoup de progrès à faire dans ce domaine.

- REFERENCES

- 1 - A. L. LEHNINGER dans Biochemistry - 2nd éd. Worth Publ., New York (1975), p. 477-508.
- 2 - H. SUND dans Biological Oxidations - Th. P. SINGER éd., Interscience, Wiley, New York (1968), p. 625.
- 3 - Handbook of Biochemistry - 2nd éd., H. A. SOBER éd., C.R.C. Press, Ohio (1970), p. J 33-J 40.
- 4 - D. THEVENOT, C. GODINOT, D. GAUTHERON, G. BRANLANT et J. F. BIELLMANN, FEBS letters, 94 (2), 206-211 (1975).
- 5 - A. DI FRANCO et M. IWATSUBO, Europ. J. Biochem., 30, 517-532 (1972).
- 6 - A. H. COLEN, R. A. PROUGH et H. F. FISHER, J. Biol. Chem., 247, 7905-7909 (1972).
- 7 - T. E. BARMAN dans Enzyme Handbook - 2 volumes Springer Verlag, Berlin (1969).